

Aus der Neurochirurgischen Universitätsklinik Freiburg i. Br.  
(Direktor: Prof. Dr. T. RIECHERT)

## Über Glykogen und alkalische Phosphatase in Hirntumoren und ihre biologische Bedeutung

Von

**REINHARD FRIEDE**

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 27. Januar 1956)

Die ersten Befunde über Glykogen in Tumoren sind 1890 von LANGHANS an Hand der Jodmethode beschrieben worden. Mit der BESTSchen Carminfärbung für Glykogen wurde in der Folgezeit mehrfach über Glykogen in Tumoren berichtet (s. KLEESTADT, GIERKE). Systematische biochemische Untersuchungen wurden zuerst 1928 von BERNHARD durchgeführt: Bei Carcinomen und Sarkomen fand sich chemisch in den malignen Tumoren etwa 10mal mehr Glykogen, als in benignen Tumoren. Desgleichen erwies sich der Milchsäuregehalt als erhöht. Auf die Beziehungen zu anderen biochemischen Befunden, insbesondere den Ergebnissen WARBURGS werden wir unten noch zurückkommen.

Das spezielle Teilgebiet der Hirntumoren blieb bei diesen früheren Untersuchungen weitgehend unberücksichtigt. Die ersten Befunde über Glykogen im Hirntumor wurden unseres Wissens 1918 von CASAMAJOR erhoben: es wird im nekrotisierenden Anteil besonders reichlich gefunden. Später (1928) berichtet MARINESKO über reichlichen Glykogengehalt in Amputationsneuromen. Eingehendere systematische Untersuchungen wurden erst 1951 von KASABJAN und 1952 von LIPOINA durchgeführt. KASABJAN berichtet über 60 Tumoren, davon 40 zentrale. In allen Tumoren wurde mit BESTs Carminfärbung Glykogen nachgewiesen, besonders reichlich in multiformen Glioblastomen und in Plexuspapillomen.

Untersuchungen mit modernen histochemischen Methoden, wie der McMANUS-HOTCHKISS-Reaktion wurden an Hirntumoren in großem Umfange noch nicht durchgeführt. Wir haben daher an Hand des Operationsmaterials unserer Klinik diese Frage erneut aufgegriffen.

Aus Befunden am normalen Hirngewebe ist bekannt, daß hier die Lokalisation von Glykogen und alkalischer Phosphatase in vielen Punkten übereinstimmt, was von SHIMIZU hervorgehoben wurde. Es schien daher wünschenswert zu prüfen, ob sich solche Beziehungen auch im Tumorgewebe erkennen lassen. Über die histochemische Lokalisation der alkalischen Phosphatase in Hirntumoren liegen bereits Beobachtungen von LANDOW, KABAT und NEWMAN vor, auf die wir noch zurückkommen werden.

In der vorliegenden Untersuchung soll also die Topographie des Glykogens und die anderer hochmolekularer Kohlenhydrate an Hand der

Perjodsäure-SCHIFF-Technik untersucht werden, um sie mit der Topographie der alkalischen Phosphatase zu vergleichen. Dabei wurden folgende Fragestellungen besonders berücksichtigt: 1. Bestehen Beziehungen zwischen dem Vorkommen von Glykogen und alkalischer Phosphatase im Tumor und ihrem Vorkommen im entsprechenden normalen Muttergewebe? 2. Lassen sich gegenseitige Beziehungen dieser Substanzen im Tumorgewebe feststellen? 3. Inwieweit lassen sich die histochemischen Befunde mit den Ergebnissen der biochemischen Erforschung der Tumoren vereinbaren? 4. Ergeben sich klinisch brauchbare Folgerungen?

### Material und Methodik

Zur Untersuchung kamen 101 Tumoren; die genauere Aufschlüsselung vermittelt die spezielle Beschreibung. Es wurde nur Operationsmaterial benutzt. Für Kohlenhydratuntersuchungen wurde es bei oder unmittelbar nach der Operation ganz frisch fixiert (CARNOYS Gemisch).

Weitere Behandlung: Paraffineinbettung, Schnitte 12  $\mu$ , aufgezogen auf warmen Alkohol, Celloidinierung in üblicher Weise. Zur Darstellung von Kohlenhydraten wurde die Perjodsäuretechnik nach McMANUS-HOTCHKISS angewandt, zum Teil auch die Versilberung nach ARZAC FLORES und die BAUER-FEULGEN-Färbung. Entsprechend den Erfahrungen am Hirngewebe wurden sämtliche Schnitte ohne Gegenfärbung untersucht. Eine Lokalisation ermöglicht das Phasenkontrastverfahren. Die Untersuchung ohne Gegenfärbung hat zum Vorteil: 1. Die Überdeckung feinster Granula durch die Gegenfärbung wird verhindert. 2. Erst ohne Gegenfärbung wird die diffuse Reaktion der Grundsubstanz beurteilbar, während sie sonst in einer leichten Änderung des Farbtönes untergeht. Oft sind bei Tumoren allerdings die Kohlenhydratvorkommen so massiv, daß eine Gegenfärbung die Beurteilung nicht wesentlich stört.

Die Unterscheidung zwischen Glykogen und anderen Kohlenhydraten (Mucopolysaccharide, Glykoproteide) ist durch die Diastaseprobe möglich. Gebraucht wurde hochgereinigte Diastase Merck. Sämtliche hier gemachten Angaben über Glykogen beziehen sich auf McMANUS-HOTCHKISS-Färbungen, bestätigt durch Diastaseproben; gemeinsam bilden beide eine verlässliche histochemische Reaktion auf Glykogen.

Material für alkalische Phosphatase wurde in Aceton fixiert und als Gefrierschnitte (15  $\mu$ ) weiterbehandelt. Der Nachweis erfolgte sowohl nach der klassischen Methode von GOMORI, als auch nach der neueren Azofarbstoff-Simultan-Kupplungsmethode; Anleitung nach PEARST<sup>1</sup>. Leider konnten nicht bei allen Glykogenuntersuchungen auch solche auf alkalische Phosphatase vorgenommen werden, so daß sich bei den in der Sammlung weniger häufig vertretenen Tumoren (so z. B. leider auch beim Flexuspapillom) einige Lücken finden.

### Allgemeine Bemerkungen zur Topographie der Kohlenhydrate

Bei der Perjodsäuretechnik (PAS-Technik) kann man im Hirn, wie auch im Tumorgewebe deutlich eine diffuse, homogene Reaktion der

<sup>1</sup> Bezugsquellen: Stabile Diazotate von 4-Benzoylamino 2,5-dimethoxyanilin, von 4-Chloro-o-anisidin, von 5-Chloro-o-toluidin als Echtblausalz RR, Echtrotsalz RC und Echtrotsalz TR bei Hoechst. Na- $\alpha$ -Naphthylphosphat bei C. Roth, Karlsruhe, Herrenstraße.

Grundsubstanz von einzelnen Granula unterscheiden. Die diffuse Reaktion zeigt sich als zarte Rosafärbung der Grundsubstanz, die in ihrer Intensität andeutungsweise deren Textur erkennen läßt. Die Granula hingegen sind intensiver rotgefärbt und finden sich extra- und intracellulär.

Allgemein ist die diffuse Reaktion nicht diastaseempfindlich, also kein Glykogen, die Granula sind praktisch immer diastaseempfindlich, also Glykogen. Die PAS-Reaktion von Hämosiderin (GEDIGK und STRAUSS) gibt bei genügender Aufmerksamkeit kaum Anlaß zu Irrtümern.

Dieses histochemische Verhalten deckt sich mit den Befunden, die man am Hirngewebe erheben kann; auch hier ist die diffuse Reaktion nicht, die granuläre meist diastaseempfindlich. Eingehendere Daten einer histochemischen Analyse der Grundsubstanz finden sich bei HESS.

Als für das gesamte Material gültig können hier der speziellen Topographie einige allgemeine Regeln vorangestellt werden:

Wenn sich Glykogen in Gefäßwänden findet, so liegt es diffus verstreut in der Wandung, ohne Bevorzugung einzelner Schichten oder Zellelemente. Perivasculäres Glykogen, wie es im Hirngewebe am häufigsten gefunden wird, ist im Hirntumor sehr selten zu beobachten. Die Intensität der diffusen Reaktion der Grundsubstanz ist zum Teil von der Art des Tumors abhängig; häufig gehen aber Glykogenanreicherung und diffuse Reaktion parallel, so daß Zonen mit starker diffuser Reaktion auch stark granuliert sind. Abgesehen davon fallen intensive Glykogenanreicherungen meist mit den Randzonen einer Nekrose zusammen. Hier kommt es zur Darstellung abgerundeter Zellelemente durch intensive Glykogenspeicherung. Es finden sich aber auch glykogenreiche Zonen im Tumorgewebe, ohne histologisch nachweisbare Nekrose oder Nekrobiose; solche sind allerdings in nekrotisierenden Tumoren am häufigsten.

#### Befunde

**Meningeome.** Von 16 Meningeomen zeigten 13 sehr reichlichen Glykogengehalt. Diese 13 Meningeome waren fibroplastisch oder Meningeome vom Psammomtyp (Inseltyp), während 2 restliche, glykogenarme bis glykogenfreie Meningeome cytoplasmatische Meningeome waren; ein drittes cytoplasmatisches Meningeom zeigte grobkörniges Glykogen innerhalb der Zellhaufen.

In den fibroplastischen Meningeomen zeigte das Glykogen vielfach Beziehungen zu den Zellelementen, die nicht selten samt ihren Fortsätzen durch eine feine Granulierung dargestellt waren. Darüber hinaus findet sich — wechselnd von Fall zu Fall — eine mehr oder weniger dichte, meist grobgranuläre „Bestäubung“, die sich nicht eindeutig zu bestimmten Zellen lokalisieren läßt. Sie folgt meist deutlich der durchflochtenen Textur des Gewebes. Zwischen dem intracellulären Vorkommen und der „Bestäubung“ finden sich alle Übergänge. Seltener sind abgerundete, dicht speichernde Zellelemente, deren Seltenheit offenbar mit dem Zurücktreten nekrotischer Veränderungen zusammenhängt.

In 2 cytoplasmatischen Meningeomen war das Stroma praktisch glykogenfrei; Gefäßwände zeigten nur vereinzelt granuläre Speicherung.

Bei Diastaseprobe schwanden sämtliche granulären PAS-positiven Substanzen und eine zarte, diffuse, rosa-getönte Reaktion des Gewebes blieb zurück.

**Alkalische Phosphatase:** Die stärkste Phosphatasereaktion von allen Tumoren wiesen die Meningeome auf. Die Stärke der Reaktion und auch die Lokalisation entspricht dem Glykogengehalt.

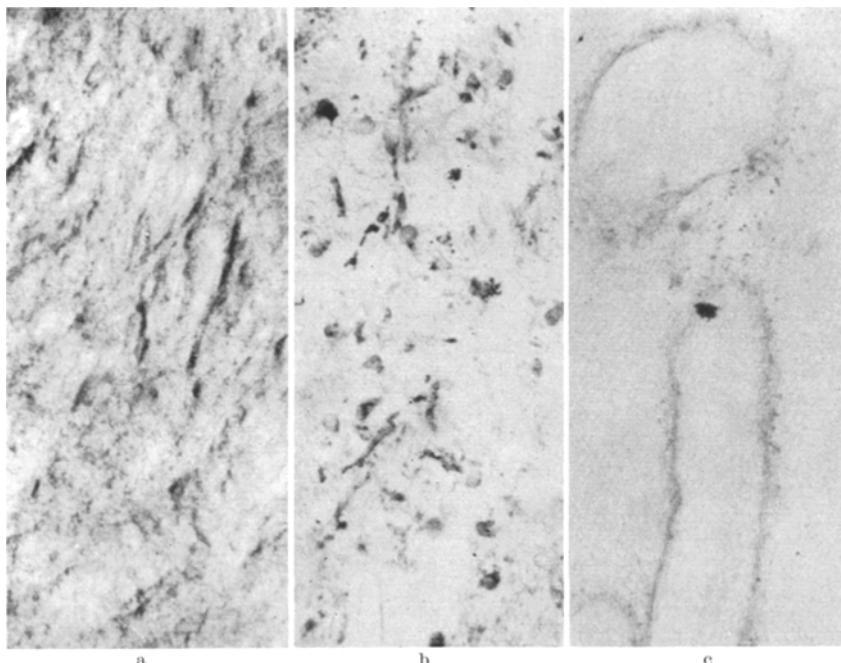


Abb. 1 a—c. a Speichernde Zellen und feingranuläre „Glykogenbestäubung“ in einem fibroplastischen Meningom. b Glykogenspeichernde Spongioblasten und abgerundete Elemente in einem Spongioblastom. c Große, mäßig reichlich glykogenhaltige Gefäße in einem Astrocytom; das Stroma ist negativ. — Sämtliche Bilder Färbung nach MCMANUS-HOTCHKISS ohne Gegenfärbung. Vergrößerung 160fach

Die Tumorzelle selbst gibt eine starke Reaktion, die sich zum Teil auch diffus in die Umgebung erstreckt. Dabei ist, wie beim Glykogen, die Reaktion nicht in allen Partien gleich stark, sondern wechselnd in verschiedenen Arealen. Bei den cytoplasmatischen Meningeomen hingegen war die Reaktion auf alkalische Phosphatase im Stroma negativ, schwach positiv in den Gefäßwänden.

**Astrocytome und Oligodendroglione.** Bezuglich des Glykogengehaltes unterscheiden sich beide Tumoren in keinem Punkte grundsätzlich voneinander, so daß sie gemeinsam besprochen werden können. Allgemein beurteilt, scheinen die Astrocytome die glykogenreicheren Tumoren zu sein, doch zeigt der Einzelfall immer wieder Abweichungen. Untersucht wurden 14 Astrocytome und 11 Oligodendroglione.

Der größere Anteil des Tumorgewebes erwies sich als völlig glykogenfrei. Herdförmig in diesem negativen Gewebe verteilt fanden sich Areale von verschieden dichter Glykogengranulierung.

Die Häufigkeit solcher Areale wechselte von Fall zu Fall. Innerhalb derartiger Zonen sind nicht selten abgerundete Zellelemente durch eine intensive, grobgranuläre Speicherung dargestellt. Solche Elemente kann man auch disseminiert im PAS-negativen Gewebe finden. Seltener ist eine Darstellung von Zellkörpern oder plumpen Fortsätzen durch Glykogengehalt bei Elementen, die noch nicht zu Körnchenzellen abgerundet sind.

Die Areale mit dichter Granulierung zeigen eine intensivere diffuse Reaktion der Grundsubstanz, während die glykogenfreien Partien auch die diffuse Reaktion vermissen lassen.

Die Gefäße zeigen ein wechselvolles Bild; ihre Überzahl ist glykogenfrei und hat nur die mehr oder minder intensive diffuse Reaktion, wie sie (aber wesentlich intensiver) auch die normale Gefäßwand kennzeichnet. Verstreut finden sich dazwischen Gefäße, in deren Wand eine dichte, granuläre Glykogenspeicherung vorliegt. Für das wechselvolle Auftreten solcher Gefäße ließ sich keine eindeutige Ursache finden (z. B. im Gegensatz zu der Nekroseabhängigkeit abgerundeter, speichernder Zellformen); ein dicht granulierte Gefäß kann unmittelbar neben einem negativen liegen.

Die im Hirngewebe sonst so charakteristischen perivasculären Glykogenvorkommen fehlten im Tumorgewebe so gut wie völlig.

Alle granulären PAS-positiven Substanzen (abgesehen von Hämosiderin) schwanden bei Diastaseprobe; zurück blieb nur die schwache, diffuse Reaktion der Gefäßwände und einzelner Gewebsareale.

Das Vorkommen der alkalischen Phosphatase wird bei den Glioblastomen mitbesprochen werden.

**Glioblastoma multiforme.** Bei 12 untersuchten Glioblastomen ergaben sich zu den Astrocytomen und Oligodendroglomien nur quantitative, keine grundsätzlichen Unterschiede. Entsprechend der größeren Neigung des Glioblastoms zu Nekrosen fanden sich die Areale diffuser Bestäubung und intensiver Speicherung durch abgerundete oder in Abrundung befindliche Zellen wesentlich häufiger. Die Granulierung war auch dichter, stellenweise geradezu massiert. Den girlandenförmigen Nekrosen folgen gleichgelagerte Glykogensäume. Glioblastome mit ungewöhnlich starker Nekrotisierung enthielten auch ungewöhnlich viel Glykogen.

Das Tumorstroma ist jedoch im übrigen — wie bei den Astrocytomen und Oligodendroglomien — PAS-negativ (!). Alle Granula schwinden auf Diastase völlig, bis auf gelegentliches Hämosiderin (GEDIGK und STRAUSS). Die unregelmäßige Verteilung von Gefäßen mit Glykogengranula in der Wandung entspricht der für Astrocytome und Oligodendroglomie beschriebenen.

**Alkalische Phosphatase:** Bei den drei behandelten Tumorformen entsprechen sich die Bilder von Glykogen und alkalischer Phosphatase vor allem am Gefäßapparat. Der regellosen Abwechslung glykogenhaltiger Gefäßwände zwischen negativen entspricht ein ebensolches Wechseln in der Phosphataseverteilung. Phosphatasehaltige Gefäßwände sind aber allgemein häufiger als glykogenhaltige. Ob die glykogenhaltigen Gefäße tatsächlich mit den phosphatasehaltigen identisch sind, konnte nicht mit Sicherheit entschieden werden.

Kann man hier also eine gewisse — aber nicht topisch völlig sichere — Übereinstimmung der Lokalisationen finden, so fehlt eine solche im Stroma nahezu völlig. Phosphatase in Tumorzellen wurde am häufigsten perivaskular, um phosphatasehaltige Gefäße beobachtet.

Die Annahme eines Diffusionsartefaktes war hiebei auszuschließen, da die Simultankupplungsreaktion, bei der solche zurücktreten, dasselbe Bild ergab. Perivasculäres Glykogen hingegen fehlte fast völlig.

Besonders bei den Glioblastomen fiel auf, daß den oft sehr massiven Glykogenvorkommen im Stroma kaum je eine positive Phosphatasereaktion entsprach. Auch für die abgerundeten, glykogenspeichernden Körnchenzellen fand sich kein Äquivalent im Phosphatasebild. LANDOW, KABAT, NEWMAN fanden übereinstimmend mit unseren Befunden in Glioblastomen nur kleinste Areale positiv, in Astrocytomen hingegen häufiger positive Reaktion im Stroma. Die von ihnen besprochenen Zusammenhänge zwischen Verkalkung und alkalischer Phosphatase ließen sich an unserem Material nicht vergleichen, da in unserem Excisionsmaterial verkalkte Regionen zu selten waren.

**Spongioblastome.** (13 Tumoren.) Grundsätzlich entsprechen die Befunde bei Spongioblastomen denen bei Astrocytomen. Darüber hinaus findet man in Spongioblastomen jedoch ziemlich oft eine Eigenheit, die sie von den anderen Gliomen zu unterscheiden scheint: Verstreut im Stroma sind öfters typische Spongioblasten durch eine Glykogenspeicherung dargestellt. Dabei scheint es sich aber nicht um nekrotische, in Abrundung begriffene Zellformen zu handeln; vielmehr erscheinen die Zellen in normaler Form, vorzugsweise in den Fortsätzen speichernd. Solche Zellen liegen diffus verstreut im Stroma oder mehr herdförmig.

In allen anderen Punkten: Diffuse, nicht diastaseempfindliche PAS-Reaktion, Verteilung einzelner Glykogengranula enthaltender Areale und Diastaseempfindlichkeit, fand sich kein wesentlicher Unterschied gegenüber den oben besprochenen Gliomen. Das Bild der alkalischen Phosphatase deckte sich auch hier nur mangelhaft mit den Glykogenvorkommen.

**Medulloblastome.** Den geringsten Gehalt an Glykogen und PAS-positiven Substanzen überhaupt wiesen die Medulloblastome auf (5 Fälle). Das Stroma war nahezu völlig negativ; nur selten fanden sich einzelne Zellelemente mit granulärer, intracellulärer Speicherung. Areale mit herdförmiger Granulierung des Gewebes, wie sie bei den Gliomen am häufigsten sind, wurden nicht beobachtet.

Die Gefäße zeigten auch bei den Medulloblastomen ein buntes Bild, indem einzelne stark glykogenspeichernde Gefäße mit zahlreichen negativen wechseln. Jedenfalls ist im Tumor nachweisbares Glykogen quantitativ überwiegend den Gefäßwänden zugeordnet.

Eine Übereinstimmung von Glykogen und alkalischer Phosphatase findet sich hier nur insoweit, als auch das Vorkommen der letzteren sehr spärlich ist. Phosphatase findet sich, wenn überhaupt, so nur in einzelnen Gefäßwänden. Dies stimmt mit den Beobachtungen von LANDOW, KABAT und NEWMAN überein.

**Neurinome.** Die 11 Neurinome (9 Acusticus-, 2 periphere Neurinome) unterscheiden sich von allen anderen untersuchten Tumoren deutlich durch eine mehr oder weniger ausgeprägte, starke, diffuse, nicht

diastaseempfindliche Reaktion der Grundsubstanz. Diese allein bedingt, daß die Präparate schon makroskopisch intensiv rosa gefärbt sind und darin im Durchschnitt auch die Meningome übertreffen. Daneben findet sich auch granuläre Glykogenspeicherung.

Die diffuse Reaktion ist ohne Beziehung zu einzelnen Zellelementen über große Teile des Stomas in wechselnder Intensität verbreitet. Hierin eingelagert findet man — von Fall zu Fall wechselnd häufig — disseminierte, spindelförmige, seltener abgerundete Zellelemente, deren Körper durch dichte, granuläre Glykogenspeicherung dargestellt wird. Auch eine diffuse Bestäubung mit groben Granula kommt vor. Diese Granula waren — im Gegensatz zu der diffusen Reaktion — diastaseempfindlich.

**Alkalische Phosphatase:** Bei den Neurinomen war eine Tatsache mit großer Deutlichkeit zu erkennen, die auch schon bei den vorherigen Tumoren feststellbar war, aber bisher noch nicht erwähnt wurde: War die Beziehung von Glykogen und alkalischer Phosphatase schon vielfach gestört bzw. fehlend, so findet sich überhaupt keine Beziehung zwischen der diffusen, nicht diastaseempfindlichen Reaktion und alkalischer Phosphatase. Das ist bei den Neurinomen besonders deutlich, da diese durch starke diffuse Reaktion gekennzeichnet zu sein scheinen, gleichzeitig aber keinesfalls auch eine so starke Phosphatasereaktion gefunden wird, wie etwa bei den fibroplastischen Meningomen. Phosphatase-positive Gefäße hingegen sind im Neurinom häufig. Auch einzelne positive Zellen im Stroma sind zu erkennen.

**Paragliome und andere Tumoren.** Abschließend stellen wir noch die Kohlenhydratbefunde einiger weiterer Tumoren zusammen, bei denen leider vielfach auf alkalische Phosphatase nicht untersucht werden konnte.

Ein Plexuspapillom enthielt sehr reichlich Glykogen in den Epithelien, teilweise mit Anzeichen einer Abscheidung in die angrenzenden Zwischenräume. Bei 4 Ependymomen war das Stroma völlig negativ; nur die Gefäßwände zeigten vereinzelt Glykogenspeicherung. Die alkalische Phosphatase fand sich hier ziemlich regelmäßig in den Gefäßen, während das Stroma negativ war. Es ist auffallend, daß sich das histochemische Verhalten der Ependymome weitgehend mit dem der Medulloblastomen deckt. Ein Pinealom enthielt nur sehr wenig Glykogen sowohl im Stroma, als auch in Gefäßwänden, ein Craniopharyngeom hingegen reichlicher in den Epithelverbänden. In 3 Chordomen war die PAS-Reaktion intensiv positiv, doch war beachtlicherweise ein beträchtlicher Teil davon diastaseunempfindlich, so daß sicher außer Glykogen noch andere Substanzen, nach ihrer Metachromasie handelte es sich um saure Mucopolysaccharide, gespeichert wurden. Ein arterielles Angiom zeigte nur wenig Glykogen in adventitiellen Elementen, ein capilläres Angiom ließ Glykogen vermissen. Diese Befunde sind interessant, weil sie anzudeuten scheinen, daß die glykogenreichen Gefäßwände in Tumoren auf einer sekundären Beeinflussung der Gefäßwand durch den Tumorstoffwechsel beruhen.

Von 7 untersuchten Hirnmetastasen (5 Carcinome, 1 Sarkom, 1 Hypernephrom) boten 3 (Adeno-) Carcinome reichlich nicht diastaseempfindliche Mucopolysaccharide, das Hypernephrom war wie erwartbar glykogenreich. Die anderen Fälle enthielten Nekrosen mit Glykogenanreicherung im Stroma sowie abgerundeten, stark speichernden Zellelementen, während das Tumorgewebe im übrigen negativ war. Diese Befunde ähnelten sehr denen bei Glioblastomen, weshalb sie hier mitangeführt werden.

### Diskussion

Wir kommen zur Beantwortung der eingangs gestellten Fragen:

1. Bestehen Beziehungen zwischen dem Vorkommen von Glykogen sowie alkalischer Phosphatase im Tumor und ihrem Vorkommen im normalen Muttergewebe? Zur Diskussion dieser Frage muß die normale Lokalisation der Substanzen kurz überschlagen werden.

Glykogen läßt sich im normalen Hirn nach dem Verfahren von SHIMIZU und KUMAMOTO besonders in der Lamina I nachweisen, weniger in den Zellschichten des Cortex. Hier liegt es am dichtesten perivasculär, sowohl im VIECHOW-ROBIN-schen Raum, als auch in der Zwischensubstanz. Im Cortex sind die Ganglienzellen glykogenfrei, nicht aber in Ganglien des Hirnstammes. Die pathologische Vermehrung von Glykogen im Cortex in der Tumorumgebung, die wir an einem Excisionsmaterial kürzlich untersucht haben, zeigt dasselbe Muster.

Die alkalische Phosphatase findet sich im Hirn in ähnlicher Lokalisation. Im Gefäßbaum ist sie weitauß am reichlichsten vorhanden, die Rinde zeigt eine schwach positive Zwischensubstanz, die die Ganglienzellen als phosphatasefrei ausspart. Die Lamina I hat, ähnlich dem Glykogen, besonderen Phosphatasereichtum (SHIMIZU, SOULAIRAC und DESCLAUX u. a.).

Die Meningen zeigen nach SHIMIZU und KUMAMOTO große Mengen von Glykogen an der äußeren Oberfläche der Arachnoidea. Alkalische Phosphatase findet sich sehr reichlich in der Arachnoidea im Cytoplasma der Zellen, während die Pia negativ ist (LANDOW, KABAT, NEWMAN).

Im Hirn des Erwachsenen sind Plexus und Ependym normalerweise glykogenfrei (WISLOCKI und DEMPSKY); nach SHIMIZU und KUMAMOTO ist das Epithel gelegentlich positiv. Bei Embryo jedoch enthalten die Plexusepithelien und auch das Ependym reichlich Glykogen (GOLDMANN). Alkalische Phosphatase ist im Ependym von Säugern nicht nachzuweisen (LANDOW und Mitarbeiter). Das Capillarstroma des Plexus ist stark positiv, die Deckzellen negativ.

Im embryonalen Hirn wurde verschiedentlich Glykogen in der Zwischensubstanz beschrieben (GOLDMANN, KLEESTADT). Alkalische Phosphatase findet sich hier reichlich und ausschließlich im Gefäßbaum, so daß auf diesem Weg eine Darstellung des embryonalen Gefäßsystems erreicht werden kann (SCHARRER).

Allgemein ist also die Übereinstimmung der Lokalisationen von Glykogen und alkalischer Phosphatase im normalen Hirn ziemlich gut, bis auf den sicher wichtigen Unterschied, daß letztere reichlicher in der Gefäßwand, das Glykogen reichlicher perivasculär liegt.

Es ist schwer, aus den genannten Tatsachen Beziehungen zwischen Tumor und Muttergewebe zu finden, die wirklich allgemein gültig sind. Meist entsprechen sich die Häufigkeit der Substanzen im Tumor und im Muttergewebe; vielfach kommen aber auch Ausnahmen vor:

Den glykogen- und phosphatasereichen fibroplastischen Meningome entsprechen die Befunde in der normalen Arachnoidea. Die fragliche Sonderstellung der cytoplasmatischen Meningome weist auf eine Möglichkeit hin, die Genese einzelner Meningomformen auf histochemischem Wege zu untersuchen. Der Glykogenreichtum der Plexuspapillome entspricht dem normalen (aber nur dem normalen embryonalen!) Plexus. Das Phosphatasmuster in Gliomen entspricht hinsichtlich der Verteilung Gefäß—Parenchym dem normalen Hirngewebe. Die Beziehung der glykogen- und phosphatasearmen Medulloblastome zur Glykogen- und Phosphatasearmut der Ganglienzellen ist schon alleine deshalb fraglich, weil es subcortical glykogenhaltige Ganglienzellen gibt und die Ganglienzellen z. B. beim Huhn etwas alkalische Phosphatase enthalten (SHIMIZU). Wohl aber ist anzuführen, daß im embryonalen Nervensystem nur der Gefäßbaum phosphatasehaltig ist. Den einzelnen glykogenhaltigen Spongioblasten in den Spongioblastomen entsprechen ebensolche Zellen im embryonalen Nervensystem (SUNDBERG). Hierbei scheint sich indes Glykogen- und Phosphatasevorkommen nicht zu decken. Die fast glykogenfreien Ependymome lassen sich nur zum Ependym des Erwachsenen in Beziehung setzen, nicht zum embryonalen, was den Verhältnissen beim Plexuspapillom widerspricht. Andererseits deckt sich das Verhalten der alkalischen Phosphatase hier mit ihrem normalen Verhalten beim Erwachsenen.

Quantitativ ist festzustellen, daß mit der Zunahme der Malignität die Korrelation Glykogen—alkalische Phosphatase gestört wird. Maligne Tumoren (Glioblastome) enthalten histochemisch viel mehr Glykogen, als normales Hirngewebe, hingegen deutlich weniger alkalische Phosphatase. Diese „Dissoziation“ läßt sich auch an Befunden erkennen, die chemisch an peripheren Tumoren gewonnen wurden. BERNHARD findet, wie bereits eingangs erwähnt, in malignen Tumoren chemisch 10mal mehr Glykogen, als in benignen. Hingegen nimmt der Phosphatasegehalt nach WALDSCHMIDT LEITZ und McDONALD in alternden, nekrotisierenden Tumoren (gemessen an Prozent Stroma: Nekrose) ab. Nach MICHERA enthalten Medulloblastome und Astrocytome chemisch wenig alkalische Phosphatase. Es scheint daher fraglich, ob sich hinter der Bezeichnung Malignität bei BERNHARD nicht, wie bei WALDSCHMIDT LEITZ und McDONALD die größere Neigung zu regressiven Veränderungen verbirgt. Nach BRAULT allerdings sind es die in Entwicklung befindlichen Partien, die erhöhten Glykogengehalt aufweisen; eine Feststellung, die sich mit unseren Beobachtungen nicht deckt. Damit gelangen wir aber zu der zweiten Frage.

2. Entsprächen sich im Tumor Lokalisation und Menge von Glykogen und alkalischer Phosphatase?

Diese Frage findet sich im Vorangehenden größtenteils schon beantwortet. Vielfach entsprechen sich tatsächlich Lokalisation und Quantität

beider Substanzen. Dies trifft besonders bei den benignen Tumoren zu, wo das Muster im Tumor dem im Muttergewebe entspricht. Diese Feststellung kann wohl auf Grund des vorliegenden Materials mit genügender Sicherheit gemacht werden, auch unter Berücksichtigung der Tatsache, daß gleichzeitige Darstellung in einem Schnitt nicht erfolgte.

Mit der Neigung zur Nekrosenbildung bzw. zu regressiven Veränderungen, die zum Teil eine Funktion der Malignität ist, dissoziieren, wie schon besprochen, die Befunde. Dabei ist wichtig festzustellen, daß nach unseren Befunden nicht das maligne Tumorgewebe grundsätzlich mehr Glykogen enthält, sondern sich die Anreicherungen meist in Vergesellschaftung mit regressiven Veränderungen finden. Darum möchten wir auch Glykogenanreicherungen im Tumor, die sich abseits von Nekrosen, im histologisch nicht veränderten Gewebe finden, als Ausdruck einer Zellschädigung auffassen. Von solchen Zonen, bis zur abgerundeten Körnchenzelle, die Glykogen speichert, finden sich alle Übergänge.

Dieser Glykogenanreicherung kann man eine Verarmung an alkalischer Phosphatase gegenüberstellen. Aber auch topographisch tritt eine Dissoziation auf, indem die glykogenreichen Nekrosen meist gefäßfern liegen, ebenso die herdförmigen Glykogenanreicherungen, während sich die Phosphataseaktivität im oder beim Gefäß findet. Die Korrelation beider Substanzen ist also im malignen Tumor sicher schwer gestört. Damit kommen wir zur dritten Frage:

3. Lassen sich die vorliegenden Befunde mit den Ergebnissen der biochemischen Erforschung der Tumoren vereinbaren?

Auch hier sind einige Tatsachen voranzuschicken.

Die Untersuchungen von WARBURG haben gezeigt, daß das Tumorgewebe auch unter aeroben Bedingungen den Hauptteil seines Energiebedarfes durch anaerobe Glykolyse deckt. Von 13 Mol Glucose werden im Tumor 12 in Milchsäure gespalten und nur eines oxydiert, auch wenn Sauerstoff im Überschuß vorhanden ist. Der Abbau erfolgt hiebei phosphorylierend (BAUER, v. EULER, LUNDBERG); ein Teil der am Umsatz beteiligten Fermente wurden im Tumorgewebe vermehrt gefunden (Hexokinase: BOYLAND GOSS, WILLIAMS ASHMAN; Zymohexase, Isomerase: WARBURG, CHRISTIAN). Die vermehrte Milchsäurebildung wurde im Tumor (WARBURG), im ableitenden Gefäß (WARBURG, WIND, NEGELIN) sowie auch durch die  $p_H$ -Senkung (VOEGTLIN, LEUTHARD) nachgewiesen.

Es ist merkwürdig, daß sich bei dieser stark gesteigerten Glykolyse im Tumorgewebe verhältnismäßig reichlich Glykogen findet, also die Glykogenolyse mit der Glykolyse nicht Schritt zu halten scheint. Auch sind nach HÖGBERG die Zwischenstufen der Hexosephosphate im JENSEN-Sarkom nicht vermehrt. Vielleicht erklärt sich dieser scheinbare Widerspruch zum Teil aus unseren Befunden, wonach im „ungestörten“ Tumorgewebe kein Glykogen zu finden war. Hingegen fanden wir Glykogen in Abhängigkeit von Nekrosen und auch in Tumoren, die beson-

ders zu Nekrosen neigen. Hier ist die Annahme einer Störung oder Behinderung des intermediären Kohlenhydratstoffwechsels nicht unwahrscheinlich.

Die Stellung der alkalischen Phosphatase im Hirnstoffwechsel ist noch nicht befriedigend geklärt. Aus den Untersuchungen von MEYER-HOF wissen wir aber, daß der glatte Ablauf der Glykolyse ein delikates Gleichgewicht zwischen Adenosintriphosphatase und phosphorylierenden Reaktionen erfordert. Mit der unspezifischen alkalischen Phosphatase kann man dies indes nicht ohne weiteres in Zusammenhang bringen, obwohl sie nach MOOG und STEINBACH ebenfalls das Adenosintriphosphat (das für die Phosphorylierung der Glucose durch die Hexokinase erforderlich ist) zu spalten vermag. Eine Bedeutung der alkalischen Phosphatase für die Glykogensynthese, wie DEMPSEY und DEANE annehmen, ist nach unseren Befunden nicht sehr wahrscheinlich, da gerade die Minderung der alkalischen Phosphatase mit Glykogenanreicherung zusammenfiel. Eher scheint der Glykogenabbau gestört zu sein. Es wäre denkbar, daß die Rolle der unspezifischen alkalischen Phosphatase im Nervengewebe u. a. auch die Bereitstellung von anorganischem Phosphat für die Phosphorylierung beim Glykogenabbau betrifft. Die Zusammenhänge sind indes noch völlig unklar. Vielleicht könnte aber auch die eben genannte Hypothese verständlich machen, weshalb gerade die phosphatasearmen malignen Tumoren am reichlichsten an organisches Phosphat aufnehmen; dies wird ja bekanntlich an Hand von radioaktiv markiertem P<sup>32</sup> zu diagnostischen Zwecken angewandt.

4. Lassen sich aus obigen Befunden klinische Folgerungen ziehen?

Die eben genannte Hypothese eines möglichen Zusammenhanges zwischen der Armut an alkalischer Phosphatase und gesteigerter Aufnahme von P<sup>32</sup> wäre einer Überprüfung wert, da sie möglicherweise eine Basis für verschiedene Modifikationen der Isotopendiagnostik gibt.

### Zusammenfassung

1. Der histochemisch faßbare Gehalt an Kohlenhydraten und speziell Glykogen wird mit der Perjodsäure-SCHIFF-Technik an einem Material von 101 Hirntumoren untersucht und mit dem Gehalt an alkalischer Phosphatase (Methode: GOMORI und Azofarbstoff-Simultankupplungsmethode) verglichen. Die Lokalisationen von Glykogen und alkalischer Phosphatase stimmen im normalen Hirngewebe vielfach überein.

2. Fibroplastische Meningome sind glykogen- und phosphatasereich, während bei cytoplasmatischen Meningomen diese Stoffe in geringeren Mengen vorkommen. In Oligodendroglomien, Astrocytomen und multi-formen Glioblastomen findet sich Glykogen; am meisten im Glioblastom. Das Vorkommen von Glykogen steht im Zusammenhang mit der Neigung zu regressiven Veränderungen. Das Verhältnis zur alkalischen Phosphatase wird mit zunehmender Malignität gestört. Spongioblastome

zeigen einzelne glykogenspeichernde Spongioblasten. Neurinome unterscheiden sich von anderen untersuchten Tumoren durch hohen Gehalt an nicht diastaseempfindlichen höheren Kohlenhydraten. Weitere Befunde werden an Paragliomen und Hirnmetastasen erhoben.

3. Als allgemeine Faustregel sind Tumoren glykogen- und phosphatasereich, wenn sie sich von einem glykogen- und phosphatasareichen Muttergewebe herleiten. Ausnahmen kommen vor.

4. Bei benignen Tumoren entsprechen sich hierbei auch die Lokalisationen von Glykogen und alkalischer Phosphatase.

5. Bei malignen Tumoren (Glioblastomen) „dissoziieren“ die Befunde von Glykogen und alkalischer Phosphatase. Maligne Tumoren enthalten viel mehr Glykogen als relativ benigne (z. B. Astrocytome) und normales Hirngewebe. Sie enthalten hingegen *weniger* alkalische Phosphatase. Die Glykogenanreicherung tritt bei regressiven Veränderungen auf.

6. Die Beziehung der histochemischen Befunde zur Biochemie der Tumoren wird diskutiert. Sie stimmen mit den biochemisch gewonnenen Ergebnissen überein und sind offenbar durch eine Störung des im Tumorgewebe stark gesteigerten glykolytischen Abbaues zu erklären. Der verminderte Gehalt an alkalischer Phosphatase wird zur gesteigerten  $P^{32}$ -Aufnahme durch Tumoren in Beziehung gesetzt.

### Literatur

- BAUER, E., H. v. EULER u. LUNDBERG: Z. physiol. Chem. **255**, 89 (1938). — BERNHARD, F.: Klin. Wschr. **1928**, 1185. — BOYLAND GOSS, WILLIAMS u. ASHMANN: Zit. nach KÜHNAU, Handbuch der inneren Medizin, Bd. VII/2. — BRAULT, A.: Bull. Canc. **27**, 208 (1938). — CASAMAJOR, L.: Hisol. Arb. Großhirnrinde **6**, 52 (1918). — DEMPSEY, E. W. and H. W. DEANE: J. Cellul. a. Comp. Physiol. **27**, 159 (1946). — EULER, H. v.: Dtsch. med. Wschr. **1938**, 1712. — Biochemie der Tumoren. Stuttgart 1942. — GEDIGK, P., u. G. STRAUSS: Virchows Arch. **324**, 373 (1953). — GIERKE, G. v.: Erg. Path. **11**, 871 (1907). — GOLDMANN, E.: Verh. Akad. Wiss. Berlin 1913. — HESS, A.: J. Comp. Neur. **98**, 69 (1953). — HÖGBERG, B.: Zit. nach v. EULER. — KASABJAN, S. S.: Arch. Path. (Moskau) **13**, 34 (1951). — KLEESTADT, W.: Erg. Path. **15** (II), 349 (1912). — LANDOW, H., E. A. KABAT and W. NEWMAN: Arch. of Neur. **48**, 518 (1942). — LANGHANS, T.: Virchows Arch. **120**, 28 (1890). — LEUTHARD, F.: Biochem. Z. **306**, 399 (1940). — LIPCINA, L. P.: Vopr. Nejrochir. **16**, 30 (1952). — MARINESCO, G.: Ann. ant. path. **5**, 233 (1928). — MICHERA, E. V.: Vopr. Nejrochir. **15**, 17 (1951). — MOOG, F., and H. B. STEINBACH: Science (Lancaster, Pa.) **103**, 144 (1946). — SCHARRER, E.: Anat. Rec. **107**, 319 (1950). — SHIMIZU, N.: J. Comp. Neur. **93**, 201 (1950). — SHIMIZU, N., and T. KUMAMOTO: Anat. Rec. **114**, 479 (1952). — SOULAIRAC, A., et P. DESCLAUX: Revue neur. **85**, 81 (1951). — SUNDBERG, C.: Z. Anat. **73**, 168 (1924). — VOEGTLIN, Nat. Inst. Health Bull. **164**, 1 (1935). — WALDSCHMIDT LEITZ, E., u. E. McDONALD: Z. physiol. Chem. **219**, 115 (1933). — WARBURG, O.: Über den Stoffwechsel der Tumoren. Berlin 1926. — WARBURG, O., u. W. CHRISTIAN: Biochem. Z. **314**, 399 (1943). — WARBURG, O., F. WIND u. E. NEGELIN: Klin. Wschr. **1926**, 829. — WISLOCKI, G. B., and E. W. DEMPSEY: J. Comp. Neur. **88**, 319 (1948).